

1	EINLEITUNG	8
1.1	Das Fettgewebe	8
1.1.1	Aufbau	8
1.1.2	Entwicklung	8
1.1.3	Funktion des Fettgewebes	11
1.2	Das Renin-Angiotensin-System	12
1.2.1	Das systemische Renin-Angiotensin-System	12
1.2.2	Das lokale Renin-Angiotensin-System	15
1.3	Die pathophysiologische Bedeutung des RAS	17
1.3.1	Adipositas und deren assoziierte Erkrankungen beim Menschen	17
1.3.2	Adipositas und deren assoziierte Erkrankungen bei Katzen und Hunden	19
1.4	Zielsetzung	20
2	MATERIAL	21
2.1	Proben	21
2.2	Laborgeräte	21
2.3	Verbrauchsmaterialien	22
2.4	Reagenzien	22
2.5	Reagenzien für die PCR	24
2.6	Primer	24
2.7	Kits	25
2.8	Hergestellte Lösungen	26
2.9	Hergestellte Medien	27
2.10	Software, Datenbanken	28
3	METHODEN	29
3.1	Bestimmung des Ernährungszustandes der Tiere	29
3.2	Isolierung der Adipozyten und Präadipozyten	29
3.3	Zellkultur	30
3.3.1	Allgemeine Zellkulturbedingungen	30
3.3.2	Passagierung der Zellen	30
3.3.3	Bestimmung der Zellzahl	30
3.3.4	Kryokonservierung der Zellen	31
3.3.5	Auftauen der kryokonservierten Zellen	31
3.3.6	Optimierung der Zellkulturbedingungen für die Differenzierung der Präadipozyten	31
3.3.6.1	Medien für die Differenzierung	31

3.3.6.2	Differenzierungsprotokoll.....	31
3.3.6.3	Ko-Kultur mit murenen Adipozyten.....	32
3.3.6.4	Dedifferenzierung murener Adipozyten („ceiling culture“).....	32
3.3.6.5	Explantate.....	33
3.3.7	Kommerzielle feline Präadipozyten	33
3.3.8	Färbungen.....	34
3.3.8.1	Oil Red O Färbung	34
3.3.8.2	Nile Red Färbung	34
3.4	Molekularbiologische Untersuchungen.....	35
3.4.1	RNA-Isolierung.....	35
3.4.1.1	RNA-Isolierung aus murenen Adipozyten.....	35
3.4.1.2	RNA-Isolierung aus kultivierten Zellen.....	35
3.4.2	Bestimmung der Konzentration und Reinheit der Nukleinsäuren	36
3.4.3	Kontrolle der Integrität der RNA	36
3.4.4	DNase I – Behandlung	37
3.4.5	Reverse Transkription	37
3.4.6	PCR	38
3.4.7	Gradienten-PCR zur Ermittlung der primerspezifischen Temperaturoptima.....	38
3.4.8	DNA-Agarose-Gelelektrophorese	39
3.4.9	Aufreinigung der PCR-Produkte	40
3.4.10	Sequenzierung der PCR-Produkte	40
3.4.11	Real-Time-PCR.....	40
3.5	Datenverarbeitung und Statistik	42
4	ERGEBNISSE	43
4.1	Zellkultur	43
4.1.1	Etablierung einer Primärzellkultur aus Fettgewebe.....	43
4.1.1.1	Kultivierung und Differenzierung der Präadipozyten des Zellpellets	43
4.1.1.1.1	Medien für die Differenzierung	43
4.1.1.1.2	Differenzierungsprotokoll.....	45
4.1.1.1.3	Differenzierungsergebnisse der feline und caninen Zellen.....	45
4.1.1.1.4	Ko-Kultur mit murenen Adipozyten	47
4.1.1.2	Dedifferenzierung murener Adipozyten („ceiling culture“).....	48
4.1.1.3	Explantate.....	49
4.1.2	Kommerzielle feline Präadipozyten	50
4.2	Molekularbiologische Untersuchungen.....	54
4.2.1	Untersuchungen zur Genexpression im feline Fettgewebe.....	54

4.2.1.1	Genexpression während der Adipogenese feline Präadipozyten <i>in vitro</i> ..54	
4.2.1.1.1	Zelltypspezifische Genexpression	55
4.2.1.1.2	Angiotensinogen	58
4.2.1.1.3	Enzyme des RAS	58
4.2.1.1.4	Rezeptoren des RAS	60
4.2.1.2	Genexpression in den feline isolierten muren Adipozyten	63
4.2.1.2.1	Vergleich der Genexpression zwischen viszerale und subkutanen Adipozyten	63
4.2.1.2.2	Vergleich der Genexpression zwischen den viszerale und subkutanen Adipozyten unter Berücksichtigung des BCS	69
4.2.1.2.3	Vergleich der Genexpression zwischen Katzen mit niedrigem und hohem BCS unter Berücksichtigung des Fettdepots	72
4.2.1.2.4	Untersuchungen zur Korrelation zwischen den verschiedenen feline Genexpressionsdaten	78
4.2.2	Untersuchungen zur Genexpression im caninen Fettgewebe	84
4.2.2.1	Zelltypspezifische Genexpression	84
4.2.2.2	Angiotensinogen	86
4.2.2.3	Enzyme des RAS	86
4.2.2.4	Rezeptoren des RAS	86
5	DISKUSSION.....	88
5.1	Etablierung einer Primärzellkultur aus Fettgewebe	88
5.2	Genexpression in den feline Zellen	95
5.2.1	Genexpression während der Adipogenese feline Präadipozyten <i>in vitro</i>	95
5.2.2	Genexpression in den feline isolierten muren Adipozyten.....	99
5.2.2.1	Vergleich der Genexpression zwischen viszerale und subkutanen Adipozyten	99
5.2.2.2	Vergleich der Genexpression zwischen Katzen mit unterschiedlichem Ernährungsstatus	102
5.2.2.3	Untersuchungen zur Korrelation zwischen den verschiedenen feline Genexpressionsdaten.....	104
5.3	Genexpression in den caninen Zellen	106
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	108
7	SUMMARY	110
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	112
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	115

10	TABELLENVERZEICHNIS.....	115
11	LITERATURVERZEICHNIS.....	121
13	DANKSAGUNG.....	136
14	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	138